Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr.med. H. H e r k e n

Über den Einfluss krampfhemmender Pharmaka auf die Wirkung von Scillirosid, Strophanthin und Scillaren-A am Herzen der Ratte.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter Werner L e m k e

aus Potsdam.

1965

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr.med. H. H e r k e n

Über den Einfluss krampfhemmender Pharmaka auf die Wirkung von Scillirosid, Strophanthin und Scillaren-A am Herzen der Ratte.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter Werner L e m k e

aus Potsdam.

Dekan: Professor Dr.med. Adalbert L o e s c h k e

Referent: Professor Dr.med. H. H e r k e n

Korreferent: Professor Dr.med. M. S c h w a b

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 23. April 1965

I N H A L T :

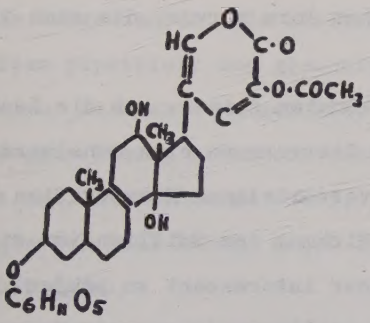
Einleitung	Seite	1 - 2
Methodik	"	3 - 8
Ergebnisse	"	9 - 25
Anhang	"	26 - 28
Diskussion	"	29 - 34
Literatur	"	35 - 36
Dank	"	37
Lebenslauf	"	38

Einleitung.

Scillirosid ist ein Reinglykosid der roten Meerzwiebel. Seine chemische Struktur unterscheidet sich nicht wesentlich von der der Glykoside der Digitalis-Strophanthusgruppe. Sie ist charakterisiert durch

1). das Cyclo-pentano-perhydrophenanthrengerüst und
2). den doppelt ungesättigten 6-Laktonring, der eine O-Acetylgruppe trägt.

Das Glykosid enthält ein Mol Glukose, die an C_3 gebunden ist.



Scillirosid.

Scillirosid besteht aus kleinen weißen prismatischen Kristallen. Es ist leichtlöslich in niederen Alkoholen, Äthylenglykol und Eisessig, schwerer in Aceton. In allen übrigen Lösungsmitteln, auch in Wasser, löst es sich schwer. Der Schmelzpunkt liegt bei 168 - 170° C. Bei etwa 200° C. findet unter Gelbfärbung Zersetzung statt.

Das Scillirosid nimmt unter den Herzglykosiden eine Sonderstellung ein. Es ist für Nagetiere außerordentlich toxisch. Rothlin und Schalch (1) stellten eine Dos.let. 50 bei oraler Applikation von 0,43 mg/kg für weibliche Albinoratten und 2,15 mg/kg für Männchen fest. Diese starken Geschlechtsunterschiede sind bemerkenswert, weil andere Herzglykoside diese

nicht zeigen.
Scillirosid muß schnell und in hoher Konzentration zugeführt werden, um Herzwirkungen auszulösen, die sich dann von denen anderer Herzglykoside vom Typ des Digitoxins oder Strophanthins nicht unterscheiden. Bei Scillirosidvergiftungen nach oraler Applikation oder parenteraler Anwendung niedriger Dosen kommen Blutkonzentrationen, die zur Herzlähmung führen könnten, nicht zustande; (O.Dybing, 12) denn die zur Herzlähmung benötigte Dosis liegt höher als die zentral toxisch wirkende Menge.
Nach Gabe kleinerer Dosen ruft Scillirosid zentrale Erregungserscheinungen von charakteristischer Form hervor, die sich in Rollkrämpfen äußern.

Herken und Mitarb. (14) konnten zeigen, daß die Isomere dex Hexachlorcyclohexans (HCH) im Tierversuch eine anhaltende antikonvulsive Wirkung gegenüber verschiedenen Krampfgiften haben. Auch die krampferzeugende Wirkung des Scillirosids wird durch HCH gehemmt (14). Es ist daher interessant zu prüfen, ob auch die herztoxische Wirkung des Scillirosids von den Hexachlorcyclohexanen beeinflußt wird. Ferner soll der Frage nachgegangen werden, wie sich andere Herzglykoside, deren zentrale Wirkungen wesentlich geringer sind, z.B. das Strophanthin und das dem Scillirosid strukturell nahestehende Scillaren A unter dem Einfluß des HCH verhalten.
Da in diesem Zusammenhang die Frage nach der zentralen Wirkung des Scillirosids auf die Steuerung der Herztätigkeit von Bedeutung ist, wird schließlich der Einfluß von Substanzen aus der Hydantoinreihe auf die Toxizität von Scillirosid und Glykosiden der Strophanthus-Scilla-Gruppe beobachtet.

Methodik:

). Herstellung der Lösungen.

Scillirosid und Scillaren A sind schlecht wasserlöslich. Auf die Bereitung der wässrigen Glykosid-Lösungen mußte daher besondere Sorgfalt verwendet werden. Uns standen die Reinglykoside der Firma Sandoz, Basel, zur Verfügung. Als Lösungsvermittler für Scillirosid diente nach einem Vorschlag von Rothlin und Schalch (1) Gummi arabicum. Durch Zerreiben der kristallinen Substanz zusammen mit dem festen Lösungsvermittler ließ sich ein feines Pulver gewinnen. Der Inhalt der Mörserschale wurde mit 0,9%iger NaCl-Lösung mehrmals ausgewaschen, die entstandene Suspension in einen Meßkolben pipettiert und gleichfalls mit 0,9%iger Kochsalzlösung bis zur Eichmarke aufgefüllt. Durch Schütteln ließ sich eine homogene Lösung gewinnen. Ausfällungen traten nachträglich nie auf. Die Einwaage von 3,75 mg Scillirosid in 50 ml physiologischer NaCl-Lösung ergab die gewünschte Konzentration von 0,075 mg/ml.

Bei der Bereitung der Scillaren A-Lösung konnte auf Alkohol als Lösungsmittel nicht verzichtet werden. Scillaren A wurde mit etwas Gummi arabicum im Mörser zu einem feinen Pulver zerrieben und zunächst in 40%igem Aethanol gelöst. Durch Verdünnen mit physiologischer NaCl-Lösung gelang es, die Aethanol-Konzentration nachträglich auf 10% herabzusetzen, ohne daß Fällungen auftraten. Die so entstandene Lösung enthielt 0,34 mg Scillaren A pro ml.

Amorphes k-Strophanthin ist gut wasserlöslich. Die zur Infusion benutzte Lösung lag in einer Konzentration von 0,25 mg/ml in 0,9%iger NaCl-Lösung vor.

Das gut wasserlösliche Nikotinsäureamid ließ sich leicht auf eine Konzentration von 50 mg/ml einstellen.

Diphenylhydantoin löst sich schwer und nur in alkalischem Milieu. Bei einem P_h von 9 ließ sich eine 1%ige wässrige Lösung herstellen.

Hexachlorcyclohexan ist kaum wasserlöslich. Es geht in Lipoidlösungsmitteln unter mäßigem Erwärmen in Lösung. Als Lösungsmittel diente oleum rapae. Die gewünschten Konzentrationen betrugen für das α - und β - Isomere 20 mg/ml und für das γ - Isomere 8 mg/ml.

Als Narkoticum diente 25%iges Äthylurethan in wässriger Lösung.

2.) Die Infusionsapparatur.

Die herzwirksamen Verbindungen wurden intravenös durch Dauerinfusion appliziert. Dafür benutzten wir eine Motorspritze wie sie von Kuroda (3) und W. Straub (2) beschrieben wurde. Sie gewährleistet eine gleichbleibende Infusionsgeschwindigkeit.

Bei konstanter Flüssigkeitszufuhr pro Zeiteinheit können die letalen Dosen aus der Infusionsdauer bis zum Eintrit des Herzstillstandes und der Konzentration der infundierten Glykosidlösung berechnet werden. Um die verbrauchten Giftmengen exakt bestimmen zu können, mußte eine genaue Eichung der Infusionsmaschine durchgeführt und später häufig kontrolliert werde Am stufenlosen Geschwindigkeitsregler wurde die Infusionsgeschw digkeit (0,5 ml/Min.) eingestellt und mit der Stoppuhr die Zeit bestimmt, in der die Maschine genau 10 ml der Eichflüssigkeit in einen Meßkolben gepreßt hatte. Die Bestimmung von durchschnittlich 20 Werten für jede Eichung ergab nach der Formel $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma \Delta^2}{n-1}}$ einen mittleren Fehler von 2%.

3.) Narkose.

Für die Infusionen wurden weibliche Ratten des Inzuchtstammes E-3, ein genetisch einheitliches Material, im Gewicht von 110 bis 160 gr verwendet.

Die Tiere erhielten vor Versuchsbeginn 4,0 ml/kg 25%iges Äthylurethan intraperitoneal. Mit dieser Dosis ließ sich in den meisten Fällen eine ausreichende Narkosetiefe erzielen. Gelegentlich mußte etwas Urethan nachinjiziert werden, was aber für den Verlauf des Versuches als bedeutungslos angesehen werden kann, da Urethan Atmung und Kreislauf nicht nennenswert beeinflußt (Schmiedeberg, 4).

Das Urethan erwies sich als gut verträglich: Auf 560 Narkosen kamen 9 Zwischenfälle. In 3 Fällen trat unmittelbar nach der Injektion gleichzeitig Atem- und Herzstillstand auf. Das legt die Vermutung nahe, daß es sich um einen durch den Einstich der Kanüle bedingten Peritonealschock gehandelt haben könnte. In 6 Fällen zeigte sich nach Eintritt der Narkose eine angestrengte und unregelmäßige Atmung, die sich jedoch nach Tracheotomie normalisierte. EKG-Veränderungen fanden sich in keinem Fall.

4.) Operations-Methode.

Die Operation an der Ratte erfolgte in folgenden Abschnitten:

Fixieren des Versuchstieres in Rückenlage auf dem Operationstisch und Anlegen der EKG-Elektroden.

T-förmiger Hautschnitt im Bereich des Halses, Freipräparieren der Hautlappen und Fixieren mit Klemmen.

Freilegen der Trachea. Tracheotomie, Intubation und Einbinden des Trachealtubus. Anschließend Beatmung mit der Motorpumpe.

Präparation der vena jugularis im Bereich ihrer Bifurkation.

Unterbinden des lateralen Jugularisastes.

Anschneiden des Gefäßes mit der Schere. Einführen und Fixieren der Infusionskanüle.

Unmittelbar nach jedem Versuch wurde eine Thoracotomie, die eine Übersicht über den gesamten Brustsitus gestattete, durchgeführt, wie sie u.A. von W.Straub (5) empfohlen worden ist.

Es ist bekannt, daß junge Ratten gelegentlich an Viruspneumonien erkrankten, die zur Karnifizierung neigen. Da eine Störung der Hämodynamik im Lungenkreislauf mit Rückwirkungen auf das Herz bei solchen Befunden nicht auszuschließen war, wurden Werte von Tieren mit frischen pulmonalen Prozessen und ausgedehnten fibrotischen Herden nicht berücksichtigt.

5.) EKG.

Der Zeitpunkt des Herztodes ließ sich durch Beobachtung des Elektrokardiogramms bestimmen.

Es wurden Brustwand-Ableitungen im Bereich von V_1 - V_3 von 2 Punkten abgenommen. Die indifferente Elektrode stellten 3 Extremitäten, linker Arm, rechter Arm, linkes Bein, dar, die über den Wahlschalter des Gerätes parallel geschaltet waren. Zur Ableitung dienten unter die Haut eingestochene Nadelelektroden. 3 Filmaufnahmen, eine sofort nach Anlegen der Elektroden eine nach Tracheotomie und künstlicher Beatmung und eine vor Beginn der Infusion, gestatteten eine genaue Beurteilung des Elektrokardiogramms während der Präparation.

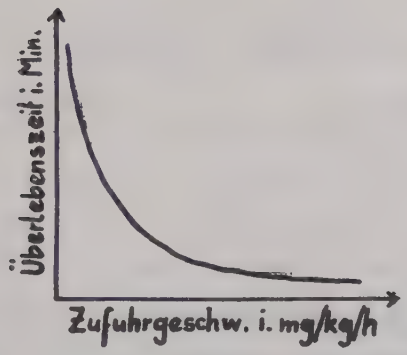
Werte von Tieren, bei denen sich nach Beginn der Infusion deutliche EKG-Veränderungen wie Bradykardie, Arhythmie oder Deformitäten des Kammerkomplexes zeigten, fanden bei der Zusammenstellung der Ergebnisse keine Berücksichtigung.

6.) Wahl der Versuchsdauer.

Für die Versuche ist die Wahl der Infusionsdauer von Bedeutung. Die Beziehungen zwischen Infusionsgeschwindigkeit, Überlebenszeit und Letaldosis sind oft Gegenstand experimenteller Untersuchungen gewesen (6, 7, 8, 9, 10, 11). Eine mathematische Darstellung des Problems findet sich im Anhang zur Arbeit von

F. Hildebrandt und M.P. Geppert (11). Trägt man in einem Koordinatensystem die Infusionsgeschwindigkeit als Abszisse gegen die Überlebenszeit als Ordinate auf, so erhält man eine ungleichseitige Hyperbel der allgemeinen Form $y = \frac{c}{x^{\delta}} = \frac{c}{x^{1-\delta}} = \frac{c \cdot x^{\delta}}{x}$, wobei c größenordnungsmäßig den veränderlichen Letaldosen und δ der Bindungsgeschwindigkeit eines Glykosids entspricht.

Kurve I.



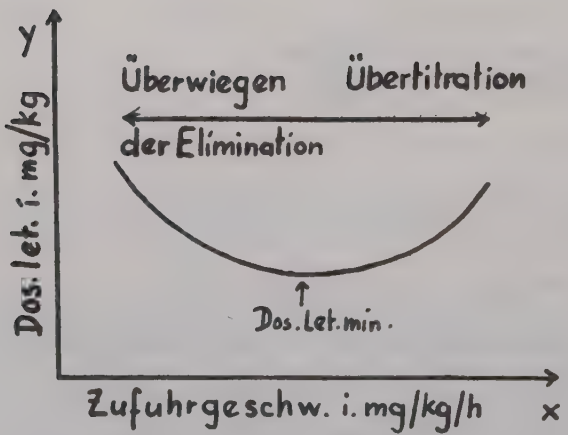
In der Kurve I kommen die veränderlichen Letaldosen jedoch nicht zum Ausdruck.

Trägt man die Infusionsgeschwindigkeit gegen die Letaldosen in einem Koordinatensystem auf, so erhält man einen parabolischen Kurvenverlauf, der für verschiedene Glykoside verschiedene Grade von Asymmetrie aufweist. Das besagt, daß mit steigender Zufuhrgeschwindigkeit die Letaldosen ansteigen, was für Übertitration spricht. Offenbar ist die Fähigkeit des Herzens, eine bestimmte Glykosidmenge pro Zeiteinheit zu fixieren, begrenzt (6). Im Fall der Übertitration würde also mehr Glykosid in den Organismus gelangen als vom Herzen fixiert werden kann. Der Rest würde zusätzlich extracardial gebunden und abgebaut werden. D.h. die Überlebenszeit verkürzt sich im

Verhältnis weniger stark als die Zufuhrgeschwindigkeit erhöht wird: Im Bereich hoher Zufuhrgeschwindigkeiten steigt die letale Dosis an.

Da mit abnehmender Infusionsgeschwindigkeit die Elimination in zunehmendem Maße spürbar wird, ist es selbstverständlich, daß auch die Verminderung der Zufuhrgeschwindigkeit ein Ansteigen der letalen Dosen zur Folge hat. Den Bereich, in dem sich Zufuhr und Elimination gerade die Waage halten, nennt man die "kritische Infusionsgeschwindigkeit" (W.Heubner).

Kurve II.



Ergebnisse:

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse wurden Kontrollversuche nach der oben beschriebenen Methode bei einer gleichbleibenden Flüssigkeitszufuhr von 0,5 ml/Min. angestellt. Die Streuung der letalen Dosen wird als mittlere Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert nach der Formel $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma \Delta^2}{n-1}}$ ermittelt, wobei Δ die Abweichung des Einzelwertes vom Mittelwert und n die Anzahl der Tiere eines Kollektivs bedeuten. Die Signifikanzberechnung erfolgt nach der Formel $t = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\left(\frac{\sigma_1}{\sqrt{n_1}}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_2}{\sqrt{n_2}}\right)^2}}$

Scillirosid

Kontrollversuche. Über die Beziehungen von Infusionsgeschwindigkeit und letaler Dosis existieren für Scillirosid keine Untersuchungen, wenn man von einer kurzen Mitteilung O.Dybings absieht (12). Es ist daher zunächst notwendig, das Verhalten der Letaldosen bei verschiedenen Infusionsgeschwindigkeiten zu betrachten. O.Dybing (12) weist darauf hin, daß das Auftreten herztoxischer Wirkungen bei Scillirosid eine rasche Zufuhr des Glykosids voraussetzt. Die Flüssigkeitszufuhr war konstant auf 0,5 ml/Min. eingestellt. Durch Variation der Glykosidkonzentration der infundierten Lösung ergaben sich die verschiedenen Zufuhrgeschwindigkeiten. Das Verhalten der Letaldosen bei einer Zufuhr von 0,2 mg/ml und 0,1 mg/ml veranschaulichen die folgenden Tabellen.

Tab. I

0,1 mg/ml - 0,5 ml/Min.				0,2 mg/ml - 0,5 ml/Min.			
Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	Tödl.Dos. in mg/kg	Nr.	Gewicht in gr	Überl. i/Min.	Tödl.Dos. in mg/kg
1	145	8'30"	2,93	1	307	9'34"	3,18
2	140	8'2"	2,87	2	300	6'20"	2,11
3	135	8'14"	3,10	3	261	7'55"	3,03
4	132	8'18"	3,15	4	241	9'41"	4,03
5	137	7'40"	2,80	5	237	9'56"	4,20
6	149	8'30"	2,24	6	215	8'21"	3,88
7	152	10'55"	3,60			8,63'	
8	149	10'56"	3,80				
9	131	9'59"	3,80				
10	143	6'3"	2,10				
11	140	9'8"	3,30				
		8,75'					

Mittelwert . . . . 3,1 ± 0,57 mg/kg. Mittelwert 3,40 ± 0,78 mg/kg

Hierbei waren die Überlebenszeiten mit 8,6 und 8,8 Min. sehr kurz und ließen vermuten, daß der Bereich der Übertitration erreicht war. Reduziert man die Zufuhrgeschwindigkeit auf 0,075 mg/ml und vergleicht das Ergebnis mit Tabelle I, so bestätigt sich diese Vermutung:

Tab. II

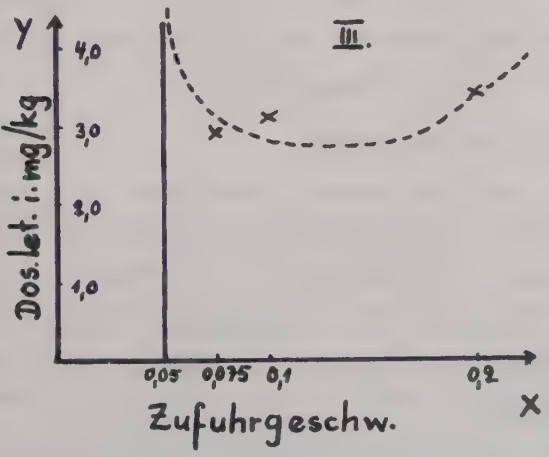
Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	Tödl.Dosis in mg/kg
1	140	12'45"	0,4780	3,41
2	141	12'57"	0,4860	3,45
3	137	11'5"	0,4150	3,03
4	130	8'55"	0,3350	2,58
5	140	11'43"	0,4390	3,13
6	151	11'30"	0,4320	2,86
7	145	13'20"	0,5000	3,45
8	144	11'5"	0,4150	2,88
9	140	11'45"	0,4410	3,15
10	147	11'22"	0,4640	3,16
11	152	11'58"	0,4490	2,95
12	144	10'33"	0,3958	2,74
13	137	9'5"	0,3400	2,48
14	139	10'20"	0,3875	2,79
15	135	10'20"	0,3875	2,87
16	156	9'10"	0,3440	2,20
17	142	8'17"	0,3097	2,18
18	146	10'34"	0,3960	2,71
19	140	7'30"	0,2814	2,01
20	139	14'15"	0,5340	3,84
21	130	10'30"	0,3940	3,03

Mittelwert . . . . . 2,95 ± 0,55 mg/kg.

Die Überlebenszeit beträgt jetzt durchschnittlich 11 Min., die letale Dosis sinkt auf 2,95 mg/kg.

Setzt man die Zufuhrgeschwindigkeit noch weiter herab (0,05 mg/ml), so überleben die Tiere Dosen von 8,0 mg/kg, ohne daß sich nennenswerte EKG-Veränderungen nachweisen lassen.

Stellt man die Letaldosen als Funktion der Infusionsgeschwindigkeit dar, so erhält man Punkte, die sich in die oben beschriebene zusammengesetzte Parabel ungefähr einfügen.



Der Scheitelpunkt der Parabel stellt die Dosis letalis minima dar.

Aus dem Ansteigen der letalen Dosen bei hoher Infusionsgeschwindigkeit (Tab. I) muß man entnehmen, daß der Bereich der Übertitration erreicht war. Bei geringer Infusionsgeschwindigkeit steigt die letale Dosis ebenfalls an, was auf Eliminationsvorgänge schließen läßt. Mit einer Infusionsgeschwindigkeit von 0,075 mg/ml wird also bei unseren Versuchstieren die Dosis letalis minima und damit der optimale Wirkungsbereich im Sinne H. Mehnerts erreicht (6).

O.Dybing gibt in einem i.v.-Infusionsversuch mit einem Kollektiv von 7 Tieren (weiße Ratten) eine tödliche Dosis von 5,44 ± 0,67 mg/kg an. Die beobachteten Überlebenszeiten betrugen durchschnittlich 15 Min. Der Unterschied zu unserem Befund (Tab.III ist darauf zurückzuführen, daß der Autor kein kristallines Reinglykosid, sondern ein von ihm nach der Methode von Stoll und Renz dargestelltes amorphes Präparat aus roter Meerzwiebel benutzte. An anderer Stelle (Gold, Model und Mitarb., 15) wird der Reinheitsgrad des nach dem Verfahren von Stoll und Renz gewonnenen amorphen Scillirosids mit 60% angegeben.

Versuche mit vorbehandelten Tieren.

In der Einleitung wurde erwähnt, daß die Isomeren des HCH in der Lage sind, die krampferzeugenden Wirkungen des Scillirosids zu hemmen. Da das Scillirosid auf Grund seiner chemischen Struktur zugleich ein herzwirksames Glykosid ist, lag es nahe, die Wirkung des HCH auf die Scillirosidintoxikation des Herzens zu untersuchen.

Zuerst soll das Verhalten des α - Isomeren des HCH geprüft werden. Weibliche Ratten im Gewicht von 120 - 140 gr erhielten wie bei den Untersuchungen über die Krampfhemmung 4 Tage vor dem Infusionsversuch 200 mg/kg α - HCH, das ihnen in Rapsöl gelöst mit der Magensonde verabreicht wurde. Bei den folgenden Infusionen konnte eine den Kontrollen gegenüber deutliche Resistenzzunahme der Tiere beobachtet werden. Der Anstieg der Letaldosen von Scillirosid veranschaulicht die folgende Tabelle.

Tab. III

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	137	16'20"	0,6130	4,470
2	127	18'45"	0,7030	5,540
3	138	20'15"	0,7590	5,500
4	130	16'30"	0,6190	4,760
5	130	15'10"	0,5690	4,375
6	132	17'06"	0,6410	4,860
7	129	12'50"	0,4810	3,760
8	118	15'20"	0,5700	4,830
9	122	15'00"	0,5625	4,610
10	117	15'03"	0,5640	4,820
11	130	14'10"	0,5310	4,080
12	135	22'45"	0,8535	6,300
13	133	19'18"	0,7240	5,440
14	138	20'39"	0,7744	5,600
15	116	18'30"	0,6940	5,980
16	118	16'45"	0,6280	5,320

Mittelwert . . . . . 5,02 $\pm$ 0,69 mg/kg.

Die Abnahme der Toxizität des Scillirosids unter dem Einfluß des HCH ist signifikant. Bei $t = 9{,}85$ ist $p < 0{,}0002$. Dabei hat die Streuung verglichen mit den Kontrollwerten nicht zugenommen, sondern liegt mit $\pm$ 13,8% sogar niedriger. Bei den Versuchen mit Tieren, die in gleicher Weise mit β - HCH 6 - 7 Tage vor der Infusion behandelt worden sind, fällt die außerordentlich starke Streuung von $\pm$ 26% auf, die dadurch zustandekommt, daß in dem Kollektiv von 27 Tieren 1/3 der Werte im Bereich der Kontrollen liegt:

Tab. IV

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	130	10'34"	0,3962	3,050
2	149	10'34"	0,3962	2,720
3	154	18'30"	0,6190	4,020
4	125	9'20"	0,3500	2,800
5	118	17'34"	0,6585	5,690
6	138	14'00"	0,5250	3,810
7	126	15'43"	0,5890	4,675
8	146	20'20"	0,7620	5,220
9	132	22'30"	0,8450	6,400
10	130	18'36"	0,6970	5,360
11	136	9'10"	0,3440	2,530
12	161	15'00"	0,5620	3,495
13	150	24'30"	0,9225	6,150
14	147	16'30"	0,6190	4,210
15	157	19'00"	0,7125	4,540
16	151	21'50"	0,8190	5,425
17	152	13'15"	0,4960	3,260
18	154	19'43"	0,7400	4,800
19	153	18'30"	0,6940	4,540
20	153	16'25"	0,6150	4,020
21	144	19'20"	0,7250	5,040
22	146	22'36"	0,8480	5,800
23	146	16'03"	0,6020	4,125
24	155	13'55"	0,5210	3,360
25	150	14'15"	0,5340	3,560
26	177	13'06"	0,4910	2,775
27	191	14'10"	0,5310	2,780

Mittelwert . . . . . 4,23 $\pm$ 1,14 mg/kg.

Trotzdem wird auch hier eine signifikante Toxizitätsabnahme gefunden ($t = 5{,}1$; $p < 0{,}0002$).

Versuche mit γ - HCH.

Die Versuchstiere erhielten 4 Tage vor der Scillirosid-infusion 80 mg/kg γ - HCH per os. Das Ergebnis der Versuche zeigt die folgende Tabelle.

Tab. V

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	116	15'25"	0,577	4,98
2	118	13'58"	0,524	4,44
3	123	11'42"	0,439	3,57
4	114	15'8"	0,567	4,98
5	117	13'50"	0,522	4,47
6	119	16'18"	0,610	5,14
7				4,12
8				5,38
9				4,00
10				4,28
11				5,90

Mittelwert . . . . . 4,66 $\pm$ 0,68 mg/kg.

Auch bei diesen Versuchen tritt eine signifikante Toxizitätsabnahme des Scillirosids gegenüber den Kontrollen in Erscheinung ($t = 7,2$; $p < 0,0002$).

Nimmt man für die Wirkung des Hexachlorcyclohexans zentrale Angriffspunkte an, was nach den Untersuchungen über seine antikonvulsive Wirkung als wahrscheinlich gelten muß, so gewinnt nach den vorliegenden Ergebnissen die Frage an Bedeutung, inwieweit eine zentral-nervöse Komponente am Zustandekommen der herztoxischen Wirkung des Scillirosids mitbeteiligt ist. Um eine weitere Klärung der Frage herbeizuführen, soll der Verlauf einer intravenösen Scillirosidvergiftung nach Vorbehandlung mit einem Hydantoin-Präparat untersucht werden (siehe hierzu Rothlin und Schalch, 1).

Unsere Versuchstiere erhielten 40 mg/kg Diphenylhydantoin 30 Min. vor Versuchsbeginn intraperitoneal und wurden dann einer Dauerinfusion mit Scillirosid unterworfen.

Tab. VI

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	130	14'56"	0,560	4,30
2	126	14'6"	0,530	4,20
3	125	19'34"	0,734	5,87
4	115	16'15"	0,610	5,30
5	142	16'25"	0,616	4,34
6	154	22'15"	0,835	5,42

Mittelwert . . . . . 5,24 ± 0,8 mg/kg.

Durch Diphenylhydantoin wird die Toxizität des Scillirosids noch deutlicher herabgesetzt als durch die Isomerendes Hexachlorcyclohexans. Die Signifikanzberechnung ergibt für t = 6,6 und für p = 0,0005.

Versuche mit Nikotinsäureamid.

Wie einleitend schon bemerkt soll im Folgenden die Wirkung des Nikotinsäureamids auf die unter dem Einfluß des HCH eingetretene Resistenz der Ratten gegen Scillirosid studiert werden, da Versuche von Coper gezeigt haben, daß Nikotinsäureamid den antikonvulsiven Effekt des HCH reduzieren kann.

Kontrollen:

Die Tiere erhielten 16 Stunden vor Versuchsbeginn 500 mg/kg Nikotinsäureamid in wässriger Lösung intraperitoneal. Das Ergebnis der anschließenden Scillirosidinfusion stellt die Tab.VII dar.

Tab. VII

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	Tödl. Dosis in mg/kg
1	144	12'34"	0,47	3,25
2	123	9'5"	0,37	3,03
3	125	11'36"	0,44	3,48
4	130	13'20"	0,50	3,85
5	128	9'19"	0,35	2,74
6	132	11'6"	0,44	3,30
7	122	10'3"	0,38	3,09

Mittelwert . . . . . 3,25 ± 0,11 mg/kg.

Der Mittelwert läßt eine leichte Toxizitätsabnahme gegenüber dem Kontrollwert erkennen (Signifikanz: t = 2,36; p = 0,05).

Wirkung des HCH:

In der üblichen Weise mit α -HCH vorbehandelte Tiere, die 16 Stunden vor Versuchsbeginn 500 mg/kg Nikotinsäureamid erhalten hatten, erwiesen sich gegen Scillirosid emfpindlicher als Tiere, die nur mit HCH vorbehandelt waren.

Tab. VIII

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	158	16'3"	0,60	3,81
2	135	9'48"	0,37	2,72
3	118	6'39"	0,25	2,10
4	125	11'	0,41	3,30
5	149	11'5"	0,47	3,15
6	125	12'10"	0,46	3,65
7	133	15'30"	0,58	4,37
8	140	14'5"	0,53	3,77
9	138	12'30"	0,47	3,39
10	127	12'45"	0,48	3,77
11	127	11'36"	0,44	3,43
12	127	10'56"	0,41	3,23
13	122	11'50"	0,44	3,64
(14	120	17'58"	0,67	5,61)

Mittelwert . . . . . 3,41 ± 0,55 mg/kg.

Da der Wert Nr.14 (20 Stunden nach Nikotinsäureamid-Gabe) wahrscheinlich auf einem zeitabhängigen Wirkungsverlust des Nikotinsäureamids beruht, wurde er aus der Fehlerrechnung eliminiert. - Die Empfindlichkeitssteigerung gegenüber den nur mit α - HCH vorbehandelten Tieren ist signifikant ($t = 7$; $p < 0{,}0002$).

Ebenso wurden γ - HCH vorbehandelte Tiere untersucht:

Tab. IX

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	118	9'12"	0,35	2,90
2	123	10'24"	0,39	3,17
3	122	13'9"	0,49	4,04
4	96	8'30"	0,32	3,32
5	128	12'3"	0,45	3,53
6	130	11'52"	0,45	3,42
7	124	9'33"	0,36	2,89
8	127	11'24"	0,43	3,37
9	117	9'20"	0,35	2,95
10	115	9'39"	0,36	3,14
11	95	8'	0,30	3,16

Mittelwert . . . . . 3,26 ± 0,33 mg/kg.

In den Versuchen mit Scillirosid verhalten sich HCH und Nikotinsäureamid antagonistisch.

Versuche mit anderen Herzglykosiden.

Die zentral-nervösen Wirkungen der meisten anderen Herzglykoside treten gegenüber denen des Scillirosids zurück. Das gilt besonders für die Strophanthine. (Gold und Mitarb., 15). Deshalb erscheint es nach den bisher gewonnenen Ergebnissen aufschlußreich, das Strophanthin dem Scillirosid vergleichend gegenüberzustellen.

Der Vergleich mit einem Glykosid aus weißer Meerzwiebel, dem Scillaren A, ist darüber hinaus von besonderem Interesse, weil es dem Scillirosid chemisch-strukturell sehr nahe steht.

Strophanthin.

Kontrollversuche.

Für die folgenden Kontrollversuche mit Strophanthin wurde ein amorphes k-Strophanthin-Präparat der Firma Merck in einer Konzentration von 0,25 mg/ml bei einer konstanten Zufuhr von 0,5 ml/Min. benutzt. Nach K. Fromherz und H.P. Bächtold (10) gehört k-Strophanthin zu der Gruppe von Herzglykosiden, bei denen in einem weiten Bereich von Infusionsgeschwindigkeiten die Letaldosen konstant bleiben. Die Annahme, daß mit einer Zufuhrgeschwindigkeit von 0,25 mg/ml ungefähr der optimale Wirkungsbereich erreicht ist, erfährt eine Bestätigung durch die Befunde H. Mehnerts (6).

Tab. X

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	115	17'33"	2,194	19,05
2	116	18'00	2,250	19,90
3	113	17'56"	2,241	19,85
4	112	17'05"	2,135	19'08
5	127	17'55"	2,240	17,64
6	126	19'09"	2,394	19,00
7	131	18'57"	2,369	18,20
8	124	18'25"	2,303	18,60
9	110	15'55"	1,990	18,09
10	138	19'40"	2,458	17,80
11	135	18'10"	2,271	16,50
12	128	20'00"	2,500	19,54
13	126	18'34"	2,321	18,44
14	130	19'22"	2,421	18,65
15	146	20'24"	2,550	17,47
16	128	18'36"	2,325	18,19

Mittelwert . . . . . 18,47 $\pm$ 0,87 mg/kg.

Die gefundene Letaldosis stimmt gut mit den Befunden von W. Heubner und A.v.Nyary überein (13). Sie titrierten zwar mit g-Strophanthin, das Ergebnis ist aber trotzdem mit unserem vergleichbar, da - entgegen einer früheren Auffassung - die Toxizitäten von g-Strophanthin und k-Strophanthin zumindest bei Meerschweinchen und Katzen praktisch nicht differieren (Hauschild).

Versuche mit vorbehandelten Tieren.

Die Tiere wurden in gleicher Weise wie vor der Scillirosid-Infusion mit HCH vorbehandelt und mit k-Strophanthin in einer Konzentration von 0,25 mg/ml und einer konstanten Zufuhrgeschwindigkeit von 0,5 ml/Min. bis zum Herzstillstand vergiftet.

Tab. XI

α -HCH 200 mg/kg per os, 4 Tage vor Versuchsbeginn.

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	129	15'15"	1,90	15,40
2	139	18'35"	2,33	16,70
3	137	14'15"	1,78	13,00
4	130	20'	2,50	19,20
5	148	30'40"	3,80	26,13
6	128	11'30"	1,44	11,20
7	135	19'6"	2,40	17,70
8	129	12'	1,50	11,60
9	138	28'50"	3,60	26,80
10	139	16'15"	2,00	14,60
11	125	24'	3,00	24,00
12	143	26'5"	3,30	22,80
13	137	18'30"	2,30	16,90
14	127	23,30"	2,90	23,14
15	130	23'39"	3,00	22,70
16	145	33'50"	4,00	29,20

Mittelwert . . . . . 19,44 $\pm$ 5,65 mg/kg.

Der gefundene Mittelwert weicht nicht signifikant von der Kontrolle ab ($t = 0,68$; $p = 0,5$).

Tab. XII

β -HCH 200 mg/kg per os, 6 - 7 Tage vor Versuchsbeginn.

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	138	20'28"	2,6	18,6
2	140	22'	2,7	19,7
3	141	8'20"	1,1	7,4
4	127	8'	1,0	7,9
5	150	13'30"	1,7	11,27
6	130	14'54"	1,8	14,30
7	123	13'30"	1,7	13,74
8	133	15'6"	1,9	14,15
9	150	13'40"	1,7	12,10
10	140	16'	2,0	14,25
11	150	16'3"	2,0	13,25
12	137	15'	1,9	13,68

Mittelwert . . . . . 13,4 $\pm$ 3,6 mg/kg.

Das Ergebnis zeigt eine deutliche Giftung des Strophanthins unter dem Einfluß des β -HCH. Die Signifikanzberechnung ergibt: $t = 3,7$; $p = 0,005$.

Auffallend ist die große Streuung. Bei den Tieren 1 - 4 fanden sich Infiltrationen in den Lungen. Bei Nr. 5 - 12 waren derartige Veränderungen nicht nachzuweisen. Eliminiert man die Werte 1 - 4 aus der Fehlerrechnung, so erhält man als Dos.let. 12,1 ± 1,8 mg/kg. Die Streuung wird dadurch wesentlich geringer. Einen entsprechenden Versuch mit γ-HCH veranschaulicht die folgende Tabelle.

Tab. XIII

γ - HCH 80 mg/kg per os, 4 Tage vor Versuchsbeginn.

Nr.	Gewicht in gr	Überlebenszeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	Tödl. Dosis in mg/kg
1	178	20'18"	2,538	14,25
2	135	14'20"	1,790	13,29
3	146	21'24"	2,680	18,35
4	150	18'18"	2,188	15,20
5	143	24'12"	3,030	21,00
6	137	15'05"	1,885	13,76
7	154	18'45"	2,344	15,20
8	145	19'30"	2,438	16,79

Mittelwert . . . . . 15,98 ± 2,62 mg/kg.

Dieser Befund läßt gegenüber dem Kontrollwert eine geringe Giftung des Strophanthins erkennen, die aber nicht signifikant ist ($t = 2,6$; $p = 0,04$).

Diphenylhydantoin und Strophanthin:

Wie die Tab. XIV zeigt, setzt Diphenylhydantoin die Toxizität des Scillirosids herab. Die Wirkung des k-Strophanthins an Tieren, die mit Diphenylhydantoin vorbehandelt waren, zeigt die folgende Tabelle.

Tab. XIV

Nr.	Gewicht in gr	Überlebenszeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	136	15'	1,875	13,80
2	161	21'12	2,650	16,47
3	160	20'45"	2,470	15,43
4	166	21'45"	2,720	16,40
5	162	19'50"	2,480	15,30

Mittelwert . . . . . 15,50 ± 1,09 mg/kg.

Die Werte zeigen, daß die Toxizität des k-Strophanthin - im Gegensatz zu der des Scillirosids - unter der Wirkung des Diphenylhydantoins signifikant zunimmt ($t = 5,6$; $p = 0,0027$).

Scillaren A.

Kontrollen.

K. Fromherz und H.P. Bächtold (10) haben Untersuchungen über die Beziehung von Infusionsgeschwindigkeit und letaler Dosis angestellt. Sie konnten zeigen, daß die letalen Dosen für Scillaren A mit abnehmender Infusionsgeschwindigkeit in einem größeren Bereich relativ wenig absinken, was als chronische Giftwirkung gedeutet wird. Da als Versuchstiere aber Meerschweinchen dienten, konnte hier auf eine Überprüfung der Zeit-Menge-Beziehung für dieses Glykosid nicht verzichtet werden.

Die Flüssigkeitszufuhr war konstant auf 0,5 ml/Min. eingestellt. Durch Variation der Glykosidkonzentration der infundierten Lösung ergaben sich die verschiedenen Zufuhrgeschwindigkeiten. Bei langsamer Zufuhr (0,2 mg/ml) überlebten die Tiere 40 Min. ohne nennenswerte EKG-Veränderungen. Diese Infusionsgeschwindigkeit war sicher schon "kritisch" (W.Heubner). Bei Erhöhung der Zufuhr auf 0,34 mg/ml ergaben sich Überlebenszeiten von durchschnittlich 19 Minuten.

Tab. XV

Scillaren A - 0,34 mg/ml in 10%igem Äthanol
0,5 ml/Min.

Nr.	Gewicht in gr	Überlebenszeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	192	22'10"	3,77	19,70
2	175	15'	2,55	14,67
3	187	25'57"	4,40	23,52
4	192	23'23"	3,98	20,70
5	207	23'34"	4,00	19,36
6	173	24'3"	4,20	23,60
7	210	26'22"	4,60	22,00
8	132	10'15"	1,74	13,20
9	133	9'42"	1,65	12,40
10	126	11'52"	2,00	16,00
11	161	19'34"	3,33	20,62
12	154	18'24"	3,13	20,30
13	155	16'15"	2,76	17,80

Mittelwert . . . . . 18,75 ± 3,7 mg/kg.

Das Verhalten der Letaldosen bei hoher Zufuhrgeschwindigkeit zeigt die folgende Tabelle.

Tab. XVI

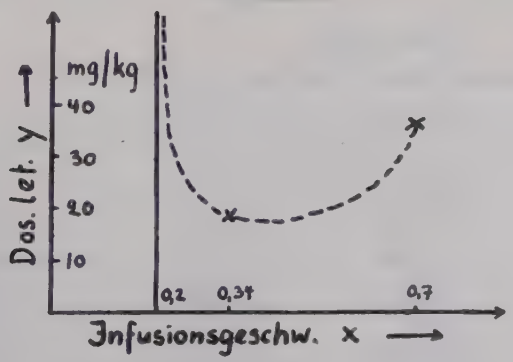
Scillaren A - 0,7 mg/ml in 10%igem Äthanol
0,5 ml/Min.

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	114	12'	4,20	36,8
2	115	13'5"	4,58	39,9
3	122	11'20"	3,90	32,0
4	129	13'45"	4,81	37,3
5	115	10'8"	3,55	30,9
6	120	15'20"	5,36	44,7
7	113	10'43"	3,76	33,2
		12,3'		

Mittelwert . . . . . 36,4 mg/kg $\pm$ 4,86.

Die relativ kurze Überlebenszeit von durchschnittlich 12,3 Min. und das starke Ansteigen der letalen Dosen sprechen für Übertitration. Eine zusammenfassende Darstellung dieser Befunde zeigt, daß die Zufuhr von 0,34 mg/ml im optimalen Wirkungsbereich liegt:

Kurve IV.



Versuche mit vorbehandelten Tieren.

Das Scillaren A steht dem Scillirosid chemisch-strukturell nahe. Seine Wirkung an HCH - vorbehandelten Tieren soll deshalb Gegenstand der folgenden Untersuchung sein.

Da die große Streuung bei den mit β - HCH vorbehandelten Tieren bei Titration mit Scillirosid und k-Strophanthin bereits aufgefallen war, wurde bei den folgenden Versuchen nur α - und γ - Isomeres geprüft. Die dabei ermittelten Werte geben die folgenden Tabellen wieder.

Tab. XVII

Scillaren A - 0,34 mg/ml in 10%igem Äthanol - 0,5 ml/Min.
α - HCH 200 mg/kg per os, 4 Tage vor Versuchsbeginn.

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	162	6'30"	1,10	6,83
2	167	10'	1,70	10,19
3	130	6'35"	1,10	8,65
4	136	7'	1,20	8,75
5	165	6'54"	1,20	7,10
6	179	18'	3,10	17,10
7	174	11'	1,90	10,70
8	160	7'45"	1,30	8,24
9	170	19'10"	3,30	19'20
10	143	8'52"	1,50	10,52
11	162	19'4"	3,24	20,00
12	150	8'6"	1,38	9,18
13	158	18'20"	3,12	19,75

Mittelwert . . . . . 12,0 ± 5,0 mg/kg.

Tab. XVIII

γ - HCH 80 mg/kg per os, 4 Tage vor Versuchsbeginn.

Nr.	Gewicht in gr	Überlebens-zeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	171	9'55"	1,70	9,75
2	179	12'45"	2,17	12,10
3	194	13'24"	2,30	11,50
4	172	8'20"	1,40	8,23
5	136	8'50"	1,50	11,00
6	138	9'	1,60	11,40
7	143	8'54"	1,50	10,65
8	132	11'	1,87	14,18
9	194	14'36"	2,48	12,80
10	197	11'21"	1,93	9,80
11	181	10'7"	1,73	9,60
12	152	12'45"	2,17	14,25
13	155	11'10"	1,90	12,22
14	142	11'20"	1,93	13,57

Mittelwert . . . . . 11,5 ± 1,8 mg/kg.

Wie Tabelle XVII zeigt erfährt Scillaren A unter der Einwirkung des α - HCH eine deutliche Giftung. Allerdings macht die Streuung von 41,5% eine weitere statistische Auswertung unmöglich. Dagegen liegt die bei γ - HCH vorbehandelten Tieren gefundene Streuung durchaus im Bereich der bisher ermittelten Werte. Die in Tabelle XVII zum Ausdruck kommende Toxizitätszunahme des Scillaren A ist signifikant ($t = 6,4$; $p < 0,0002$).

Nikotinsäureamid und Scillaren A:

Die unter γ - HCH beobachtete Toxizitätszunahme des Scillaren A läßt sich durch Vorbehandlung mit Nikotinsäureamid nicht beeinflussen.

Tab. XIX

Nr.	Gewicht in gr	Überlebenszeit in Min.	verbrauchte Substanz in mg	tödl. Dosis in mg/kg
1	144	10'42"	1,82	12,64
2	166	11'3"	1,88	11,31
3	154	12'42"	2,16	14,00
4	155	13'7"	2,23	14,4

Mittelwert . . . . . 13,1 $\pm$ 1,4 mg/kg.

Anhang

EKG-Veränderungen bei letalen Scillirosid-Infusionen.

Die EKG-Veränderungen im Verlauf letaler Digitalis-Infusionen sind mehrfach beschrieben worden (20, 21, 22, 23). Hoffmann und Wienke (19) haben den Ablauf letaler Infusionen mit einem Lanata-Präparat elektrokardiographisch erstmals an der Ratte untersucht und dabei folgende Veränderungen gefunden:

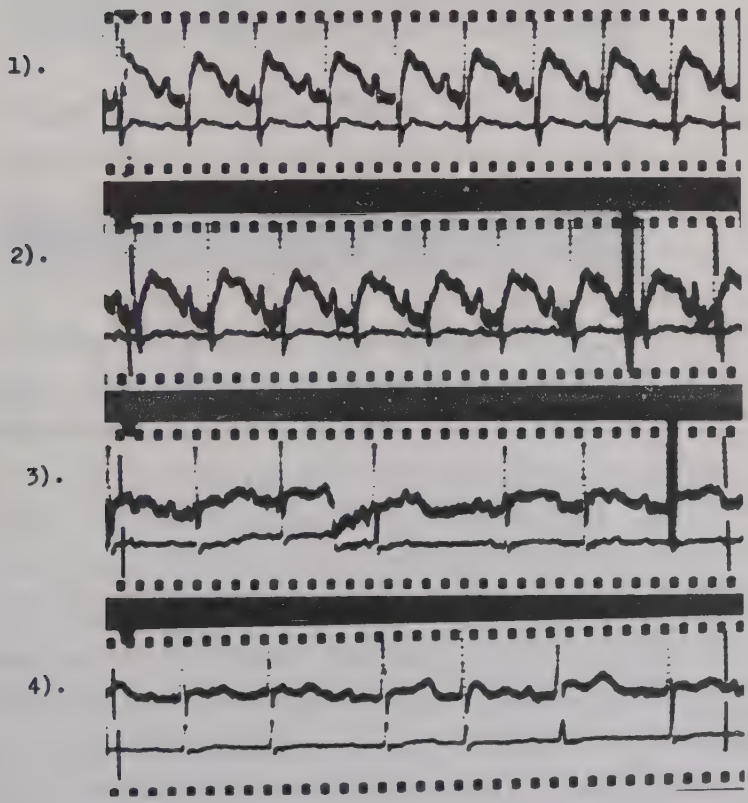
PQ-Verlängerung bei 38% der letalen Dosis
Frequenz-Verminderung bei 47% der letalen Dosis
QT-Verlängerung bei 53% der letalen Dosis
Blockbilder bei 71% der letalen Dosis.

Eine Negativität der T-Zacke sowie eine finale Tachykardie, die wiederholt beschrieben wurden, traten bei künstlicher Beatmung nicht auf.

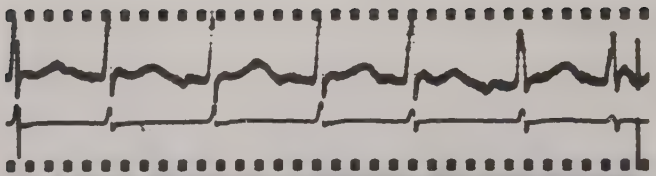
Aus dem Material unserer Versuche soll als Beispiel das EKG während einer letalen Scillirosid-Vergiftung den Befunden von Hoffmann und Wienke (19) gegenübergestellt werden.

1). EKG vor Beginn der Infusion
2). Eine Minute nach Infusionsbeginn (bei 7,8% der tödl.Dosis): EKG unverändert.
3). 3 Minuten 10' nach Beginn der Infusion (25% der tödl.Dosis): Frequenz-Abnahme, Sinus-Arhythmie.
4). Nach 5 Min. 45' (45% der tödl.Dosis): ausgeprägte Arhythmie und Bradycardie, hoher Abgang der T-Zacken. QRS-Verbreiterung angedeutet. PQ- und QT-Zeit verlängert.
5). Nach 9 Min. (70% der tödl.Dosis): Frequenz weiter abgesunken, QRS-Verbreiterung sehr deutlich.
6). Nach 10 Min. 45' (84% der tödl.Dosis): ausgesprochene Bradycardie, Arhythmie, Schenkelblockbilder, polytope ventriculäre Extrasystolen, keine negativen T-Zacken.
7). Nach 12 Min. 10' (95% der tödl.Dosis), kurz vor dem Herzstillstand: Kammerflattern.

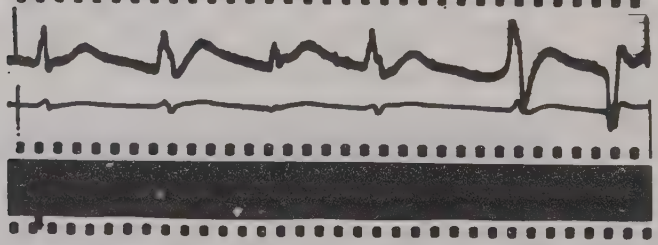
Wenn man von einer frühzeitig auftretenden Arhythmie absieht, lassen sich wesentliche elektrokardiographische Besonderheiten der Scillirosid-Vergiftung im Vergleich zu anderen Glykosiden nicht feststellen.



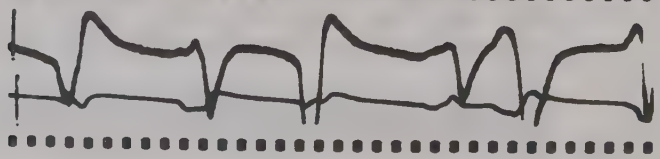
5).



6).



7).



Diskussion.

Unsere Befunde lassen erkennen, daß die toxische Wirkung des Scillirosids bei kurzdauernden intravenösen Injektionen durch α - β - und γ - HCH und Diphenylhydantoin gehemmt wird, während die Toxizität der Glykoside k-Strophanthin und Scillaren A durch die gleiche Behandlung unbeeinflußt bleibt oder sich sogar erhöht.

Bei Betrachtung dieser Befunde erscheint es notwendig, die herztoxischen und die zentral-nervösen Wirkungen des Scillirosids, Scillarens und Strophanthins genauer zu betrachten und zu differenzieren.

In einer Reihe von Veröffentlichungen haben sich Gold, Modell, Catell, Benton und Cotlove (15), ferner Rothlin und Schalch (1) sowie O.Dybing (12) mit der Frage beschäftigt, ob die toxische Wirkung des Scillirosids auf Ratten in erster Linie auf das Herz oder vielmehr auf das Zentralnervensystem zu beziehen sei. Eine genaue Schilderung der Scillirosidvergiftung nach kleinen intravenösen Dosen gibt Gold (15). Kurz nach der Injektion kommt es plötzlich zum Kollaps mit Atemdepressionen und motorischer Schwäche. Dabei ist die Herzaktion frequent und regelmäßig. Diesen Zustand nennt Gold den "initial shock effect". Gold läßt offen, ob es sich dabei um eine akute Wirkung auf das Zentralnervensystem, das Vasomotorenzentrum oder die Gefäße direkt handelt. - Schon nach wenigen Minuten erholen sich die Tiere wieder. Nach einem symptomenfreien Intervall von 2-3 Stunden beobachtet man Lähmungen und Ataxie, die bald in Übererregbarkeitserscheinungen übergehen (2.Phase). Nach weiteren 2 Stunden setzen in der 3.Phase Konvulsionen ein, die für Scillirosid charakteristisch sind und als Rollkrämpfe imponieren. Nach

2 - 3 Stunden andauernden Krämpfen, die in Zwischenräumen von 2 - 3 Minuten auftreten, tritt der Tod durch Atemlähmung im Krampfanfall oder in schwerer Erschöpfung ein. Das Herz schlägt danach mit niedriger Frequenz noch einige Zeit weiter. Die Schwere des initialen Schocks, die Länge der Latenzzeit (Stunden) bis zur Ausbildung der Konvulsionen und die Schwere der Krämpfe sind dosisabhängig. Gibt man hohe Dosen (2 x DL 50) kann man einen andersartigen Vergiftungstyp beobachten:
Unmittelbar nach der Injektion kommen die Tiere in ein Stadium stärkster Erschöpfung mit angestrengter Atmung und schwachem, arhythmischem Herzschlag. Der Tod tritt ohne Krämpfe innerhalb weniger Minuten durch Herzstillstand ein.
Es ist somit erwiesen, daß Scillirosid den Tod der Ratte auf zwei verschiedenen Wegen herbeiführen kann. Erstens auf dem Weg über das Zentralnervensystem und zweitens durch seine direkte Herzwirkung. Gold hält es für möglich, daß beide Wirkungen durch vasomotorische Störungen kompliziert werden können.
Für die beiden Wirkungen (ZNS und Herz) läßt sich je eine LD 50 feststellen. Gold fand für die zentral-nervöse Wirkung eine LD 50 von 1,25 mg/kg. Die LD 50 für die herzlähmende Wirkung liegt bei 2,5 mg/kg. Der Verlauf der Vergiftung nach intramuskulärer und oraler Gabe von Scillirosid ist nicht grundsätzlich anders als bei intravenöser Applikation.

Spezifische zentral-nervöse Wirkungen scheinen demgegenüber bei Strophanthin nicht sehr ausgeprägt zu sein oder ganz zu fehlen. - Gold beobachtete nach einmaliger intravenöser Gabe von 1 - 25 mg/kg g-Strophanthin niemals Krämpfe. Dosen von 2 mg/kg und mehr verursachten den schon beschriebenen initialen Schock, der wenige Minuten andauerte. Nach größeren Dosen wurde das kurze freie Intervall nach dem Schock von einer Periode der

motorischen Schwäche gefolgt, wobei die Tiere eine angestrengte Atmung zeigten. Nach Dosen von 16 mg/kg kam es noch innerhalb von 2 Stunden zur Erholung. 20 - 25 mg/kg ließen den Tod innerhalb von 2 - 3 Minuten eintreten. Erst bei Anwendung hoher Dosen, die auf einen langen Zeitraum (6 Stunden) verteilt mehrmals appliziert wurden, zeigten sich zentral-nervöse Erscheinungen. So erhielten Ratten Dosen von 10 und 20 mg/kg intramuskulär in Abständen von 30 Minuten in einem Zeitraum von 6 1/2 Stunden, total = 180 mg/kg. Trotz dieser extrem hohen Dosen trat der Tod durch Herzstillstand ein, dem Kammerflimmern vorausging. Während der Vergiftung zeigten die Tiere Spastik, Lähmungen und strychninähnliche Krämpfe.

Die herzlähmenden Strophanthin-Dosen sind also wesentlich geringer als die Dosen, die zu den beschriebenen zentral-nervösen Erscheinungen führen. Das legt die Vermutung nahe, daß die nur gelegentlich und nach extrem hohen Dosen beobachteten Strophanthin-Krämpfe nicht auf einer direkten Wirkung des Glykosids auf die Zellen des ZNS beruhen. Wahrscheinlich ist die Ursache zentral-nervöser Erscheinungen während der Strophanthin-Vergiftung in einer zentralen Hypoxie aufgrund hämodynamischer Störungen zu suchen.

Ebenso stehen die zentralen Wirkungen der Glykoside der weißen Meerzwiebel hinter denen des Scillirosids zurück. Gold und Mitarb. berichten über Versuche mit Scillicin, einem wasserlöslichen Extrakt aus weißer Meerzwiebel. Nach Wallace und Van Dyke (16) ist Scillicin etwa halb so toxisch wie das Reinglykosid Scillaren A. Gold beobachtete bei intramuskulärer Applikation von Scillicin Wirkungen, die denen des Scillirosids

im Wesentlichen gleichen: Kleine Dosen verursachen Krämpfe, hohe Dosen führen zum Herzstillstand. Bei intravenöser Anwendung ließen sich mit Scillicin jedoch keine Krämpfe erzeugen. Die Tiere starben entweder innerhalb weniger Minuten durch direkte Herzwirkung oder sie erholten sich von einem Zustand motorischer Schwäche, der sehr wohl kreislaufbedingt gewesen sein kann, innerhalb von Stunden. Gold räumt ein, daß dieses Verhalten des Scillicins auf geringe Beimengungen von Scillirosid zurückgeführt werden könnte.

Rothlin und Schalch (1) beobachteten bei oraler Gabe von Scillaren A an der Ratte keine Krämpfe. Selbst Dosen von 200 mg/kg per os verursachten nur uncharakteristische Symptome, wie langsamer erschwerter Atmung, Benommenheit und Mattigkeit. Die Autoren fanden Scillirosid etwa 400 x so wirksam wie Scillaren A.

Nach diesen Befunden und den eigenen Ergebnissen kommt offenbar nur dem Sillirosid neben seiner Herzwirkung eine direkte Wirkung auf das Zentralnervensystem zu. Die zentral-nervösen Effekte des Strophanthins sind wohl mehr oder weniger unspezifisch und auch das Scillaren hat keine nachweisbaren zentralen Wirkungen. Das von Gold und Mitarb. untersuchte und als zentralwirksam erkannte Scillicin ist ein unreiner Extrakt aus weißer Meerzwiebel und enthält wie erwähnt möglicherweise Beimengungen von Scillirosid.

Auch Lendle und Oldenburg (17) haben im Rahmen ausführlicher Untersuchungen über extracardiale Digitaliswirkungen zentralnervöse Störungen unter dem Einfluß herzwirksamer Glykoside und ihrer Genine beschrieben.

Sie beobachteten nach Dosen von 10 - 20 mg Digitoxin per os und 6 - 10 mg/kg Digitoxigenin subcutan nach einer Latenzzeit von vielen Stunden anhaltende Krämpfe, die zum Tode der Tiere führten.

Mit g- und k-Strophanthin ließen sich keine Krämpfe erzeugen. Für das Strophanthidin wurde im Elektroschockversuch sogar eine Herabsetzung der Krampferregbarkeit gefunden.

Hauschild zieht das Vorhandensein direkt zentraler Angriffspunkte für Herzglykoside überhaupt in Zweifel und deutet die nach hohen Glykosid-Dosen auftretenden Krämpfe als Folge cerebralen Sauerstoffmangels durch Kreislaufversagen. Er betont aber, daß Scillirosid in dieser Hinsicht eine Ausnahme bildet.

Nur bei Verabfolgung hoher Dosen tritt die Herzwirkung des Scillirosids in den Vordergrund. Das kommt auch sehr deutlich in den Untersuchungen von O.Dybing (12) zum Ausdruck. Das von ihm angewandte Verfahren der kurzdauernden intravenösen Infusion entspricht unseren Versuchsbedingungen.

Unsere Befunde zeigen eine Hemmung der herztoxischen Wirkung des Scillirosids unter dem Einfluß zentral angreifender Pharmaka, wie dem Hexachlorcyclohexan und dem Diphenylhydantoin. Diese Beobachtung ist nur zu erklären, wenn man annimmt, daß die zum Herzstillstand führende kurzfristige Scillirosidvergiftung nicht nur durch periphere cardiotone Wirkungen, sondern auch durch zentral-nervöse Mechanismen zustandekommt. Diese Annahme erscheint bei Betrachtung der ausgeprägten zentralen Wirkungen dieses Glykosids gerechtfertigt. Die kurze Zeit, die bis zum Eintritt der Herzlähmung vergeht, und die lange Latenzzeit bis zum Auftreten der Scillirosidkrämpfe schließt nicht aus, daß Scillirosid auch unter den Bedingungen des kurzdauernden i.v.-Infusionsversuches am Zentralnervensystem zur Wirkung

kommen kann. Eine akute Scillirosidwirkung auf das ZNS wird z.B. von Gold bejaht.

Die postulierten Angriffspunkte des Scillirosids könnten in den höheren herzregulierenden Zentren des Hypothalamus lateralis und posterior liegen. Von diesen Gebieten aus konnte W.R. Hess (18) in seinen bekannten Reizexperimenten Veränderungen der Herzfrequenz und Blutdruckveränderungen auslösen. Auch niedere Herzsteuerungszentren,wie das Herzvaguszentrum, kämen als Angriffspunkt in Frage. Endlich kann nicht ausgeschlossen werden, daß Scillirosid komplizierende vasomotorische Störungen durch direkte Beeinflussung des Vasomotorenzentrums verursacht, eine Möglichkeit, die schon von Gold und Mitarb. angedeutet wird.

Die Annahme solcher Angriffspunkte des Scillirosids an den herz- und kreislaufregulierenden Zentren würde die Möglichkeit bieten, unsere Befunde zu erklären. Daß die Toxizität des Strophanthins und des Scillarens, deren zentral-nervöse Wirkungen gering sind, unter Hexachlorcyclohexan und Diphenylhydantoin nicht abnimmt, sondern eher verstärkt wird, stützt diese Auffassung.

Literatur.

(1) E. Rothlin vnd W.R. Schalch:
Zur Pharmakologie und Toxikologie des Scillirosids und des Scillirosidins.
Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta,Vol.10, S.427, 1952.

(2) W. Straub:
Eine Motorspritze zur langdauernden intravenösen Infusion.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 185, S. 456.

(3) T. Kuroda:
Vergleichende Digitalisauswertungen an Fröschen und Katzen.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 108, S. 230.

(4) O. Schmiedeberg:
Über die pharmakologischen Wirkungen und die therapeutische Anwendung einiger Carbaminsäureester.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 20, S. 206.

(5) W. Straub, Z. Kanda, F. Zinnitz:
Ein Umrechnungsfaktor von gefundenem Meerschweinchentiter auf gesuchten Froschtiter in der Auswertung von Digitalisdrogen.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 194, S. 1.

(6) H. Mehnert:
Über die Prüfung der Kumulationsneigung verschiedener herzwirksamer Substanzen am Warmblüter.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 184, S. 181.

(7) K.N. v. Kaulla:
Die Entgiftung des Digitoxins bei der weißen Ratte.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 194, S. 179.

(8) W. Straub:
Über die Zeit - Menge - Beziehungen bei der Digitalisauswertung nach Knaffl-Lenz am Meerschweinchen.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 198, S. 189.

(9) G. Hoffmann und L. Lendle:
Kritisches zur Digitalisauswertung am Meerschweinchen.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 212, S. 376.

(10) K. Fromherz und H.P. Bächtold:
Zeitfaktoren bei der Digitaliswertbestimmung am Meerschweinchen.
Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta, Vol. 8, S. 454.

(11) F. Hildebrandt und M.P. Geppert:
Über die Zeit - Menge - Beziehungen bei der Auswertung von Strophanthin und Digitoxin an der Katze.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 199, S. 568.

(12) O. Dybing:
Die Toxizität und Herzwirkung des Scillirosids.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 220, S. 207.

(13) W. Heubner und A. v. Nyáry:
Versuche zur quantitativen Erfassung der Kumulation bei Digitalisstoffen.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 177, S. 60.

(14) H. Herken, H. Kewitz und I. Klempau:
Wirkungsverluste von Krampfgiften durch Hexachlorcyclohexan.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 215, S. 217 und unveröffentlichte Versuche.

(15) H. Gold, W. Modell, Mc. Keen Catall, J.G. Benton, E.W. Cotlove:
Action of Digitalis Glycosides on the Central Nervous System with spezial reference to the convulsant action of Red Squill.
Journ. of Pharmacol. exper. Therap., Vol. 91, S. 15 (1947).

(16) E.W. Wallace, H.B. Van Dyke:
Cumulative poisoning by Squill derivates and by Ouabain.
Journ. of Parmacol. exper. Therap., Vol. 48, S. 430 (1933).

(17) L. Lendle und D. Oldenburg:
Prüfung extrakardialer Wirkungen an der digitalisunterempfindlichen Ratte.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 211, S. 243.

(18) W.R. Hess:
"Das Zwischenhirn"
Benno Schwabe u. Co. Verlag Basel 1949.

W.R. Hess:
"Die funktionelle Organisation des vegetativen Nervensystems".
Benno Schwabe u. Co. Verlag Basel 1948.

(19) G. Hoffmann und H. Wienke:
Zur Frage der verschiedenen Empfindlichkeit des Ratten- und Meerschweinchenherzens gegen Digitalis und andere Kontrakturgifte (Ba, Ca).
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 217, S. 225.

(20) C. Korth und K. Spang:
Die Wirkung des Digitoxins auf Elektrokardiogramm und Herzmuskel der Katze.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 184, S. 349.

(21) H. Bauer und H. Reindell:
Zur Kenntnis der Ursachen der Kumulierungserscheinungen der Digitalisglykoside.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 190, S. 461.

(22) R. Walther:
Beiträge zur Differenzierung der pharmakologischen Wirkungen von Stoffen der Digitalisgruppe.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 195, S. 709 (I.Mitteilung)

(23) R. Walther:
Beiträge zur Differenzierung der pharmakologischen Wirkungen von Stoffen der Digitalisgruppe.
Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 196, S. 201 (II.Mitteilung)

Besonderen Dank schulde ich
Herrn Prof. Dr.med. Hans H e r k e n
und Herrn Priv.-Doz. Dr.med. Helmut C o p e r
für alle Hinweise und Anregungen, die sie mir
bei meiner Arbeit zuteilwerden ließen.

Mein Lebenslauf.

Am 5. Mai 1938 wurde ich, Peter Werner Lemke, als Sohn des Arztes Dr. Werner Lemke und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Sundberg, in Potsdam geboren.
Von 1944 bis 1951 besuchte ich die Grundschule in Berlin-Britz. Im Sommer 1951 wurde ich in das Albert-Einstein-Gymnasium in Britz aufgenommen, wo ich am 2. März 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Sommersemester 1957 an studierte ich an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin Human Medizin. Im Oktober 1959 bestand ich die ärztliche Vorprüfung. In den Jahren 1960 bis 1962 war ich am hiesigen Pharmakologischen Institut bei Prof. Herken an einer experimentellen Doktorarbeit tätig. Vom 28. August 1962 bis zum 6. April 1963 unterzog ich mich an der Freien Universität Berlin mit Erfolg der ärztlichen Prüfung.

Im Anschluß daran arbeitete ich 6 Monate lang als Medizinalassistent an der 2.Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln und weitere 4 Monate in der Universitäts-Frauenklinik in Berlin-Charlottenburg. Vom 1. März bis zum 31. Juli 1964 hatte ich im Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin Gelegenheit, im Rahmen meiner Ausbildung experimentell zu arbeiten.

Peter Lemke